

THESIS

MUNICH

1965

DER EINFLUSS DER PAPIERSORTE
AUF DEN HEMMHOFTEST

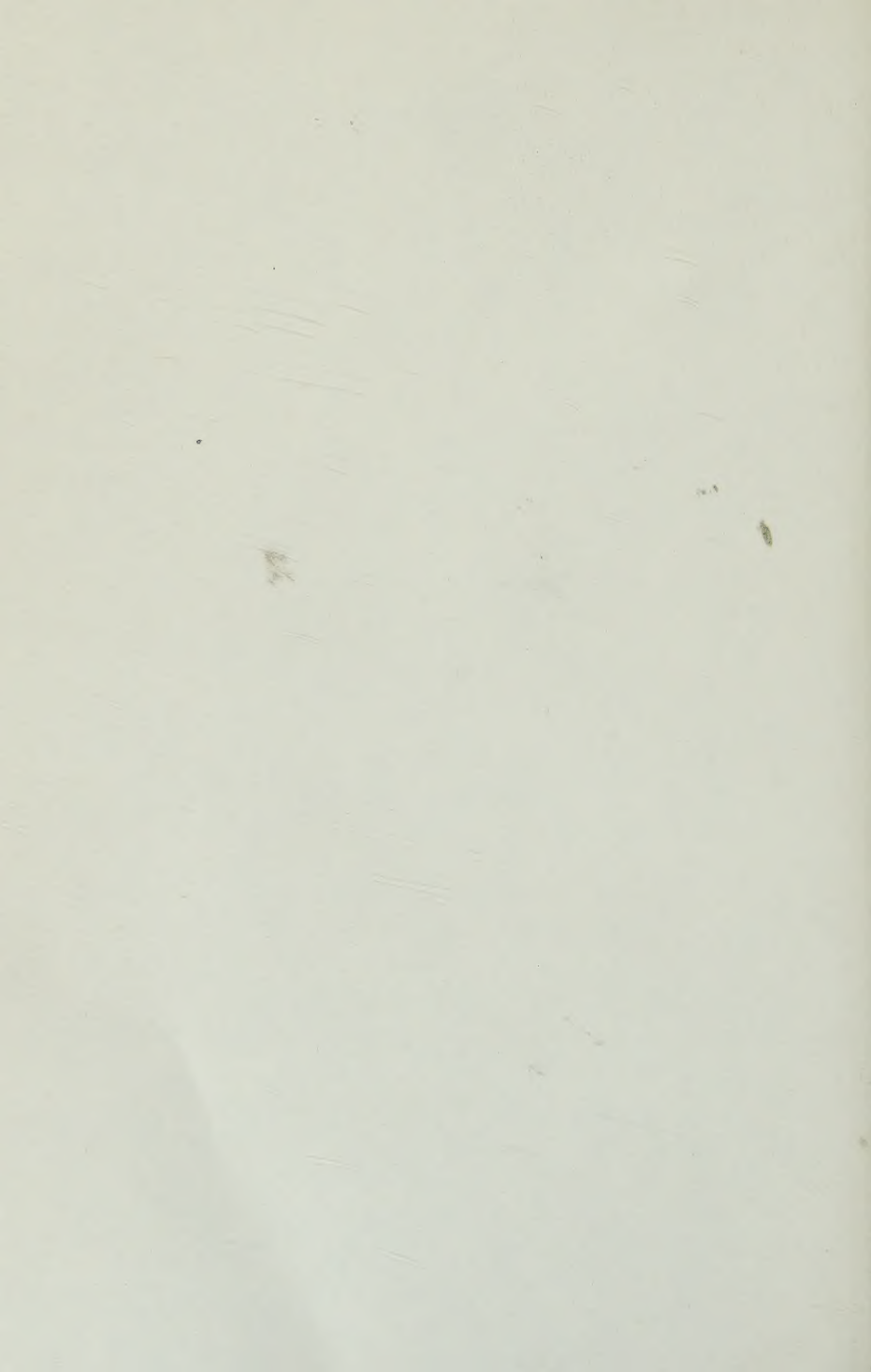
LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Christa Hoffmann





Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus dem Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene
und Med. Mikrobiologie der Universität München

Direktor: Professor Dr. Dr. H. Eyer

DER EINFLUSS DER PAPIERSORTE
AUF DEN HEMMHOFTEST

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christa Hoffmann
aus
Saarbrücken

München 1965

Dissertations-Druckerei Charlotte Schön,
München 23, Belgradstr. 11, Tel. 36 14 02

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. G. LINZENMEIER
Mitberichterstatter: Professor Dr. Dr. H. EYER
Dekan: Professor Dr. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 13.4.1965

INHALTSVERZEICHNIS

ERSTER TEIL: Theoretische Grundlegung

(Seite)

1. Bedeutung und Erscheinungsformen der Resistenzbestimmung 2
2. Fehlerquellen beim Diffusions- oder Hemmhoftest 4
3. Aufgabenstellung 7

ZWEITER TEIL: Eigene Untersuchungen

(A) Material und Methodik 9

1. Papiersorten 9
2. Chemotherapeutika 10
3. Testkeime 11
4. Standard-Blättchenversuch 12
5. Variation 1: Verschiedene Diffusionszeiten 13
6. Variation 2: Wiederholtes Auflegen 14
7. Photometrische Versuche 14

(B) Ergebnisse 18

1. Diffusionsgeschwindigkeit 18
2. Abgegebene Menge 31

DREITER TEIL:

1. Diskussion 41
2. Zusammenfassung 43
3. Literaturverzeichnis 65
4. Tabellen 46

ERSTER TEIL: Teoretische Grundlegung

1. Bedeutung und Erscheinungsformen der Resistenzbestimmung

Die steigende Zahl der verfügbaren Antibiotika eröffnet dem Arzt ständig neue Wege zur Bekämpfung von Krankheiten. Wegen der Fülle der Substanzen, wegen ihres oft engen Wirkungsbereiches, aber auch wegen der zunehmenden Resistenzentwicklung unter den Erregern (20c, 20e, 20f) ist jedoch eine gezielte Therapie erforderlich (13, 20h). Wenn man ein Antibiotikum sinnvoll einsetzen will, läßt sich zumeist eine Resistenzbestimmung nicht umgehen (20h).

Zur invitro-Untersuchung der Empfindlichkeit eines Keimes bestehen grundsätzlich zwei Möglichkeiten: der Reihenverdünnungstest und der Diffusions- oder Hemmhoftest. Für die Routine-Untersuchung ist der exaktere Reihenverdünnungstest weniger gut geeignet, weil er einen großen Arbeitsaufwand erfordert. Er bleibt daher der wissenschaftlichen Untersuchung und der Kontrolle des Diffusionstests vorbehalten.

Beim Diffusionstest gibt es verschiedene Methoden, das Antibiotikum auf den Nährboden aufzubringen (Abb.1). Entweder stanzt man in den erstarrten Agar ein Loch, in das der Wirkstoff eingefüllt wird, oder man setzt ein zylindrisches Rohr auf den Agar, das das Antibiotikum aufnimmt, oder man beschickt zunächst eine Tablette oder ein Papierblättchen und legt diese auf den Agar auf (9, 13, 20g).

Vom Blättchentest wiederum existieren verschiedene Variationen: Man glaubte, die Aussage dieser Untersuchungsmethode erweitern zu können, indem man zwei oder drei Blättchen mit verschiedenen Antibiotika-Konzen-

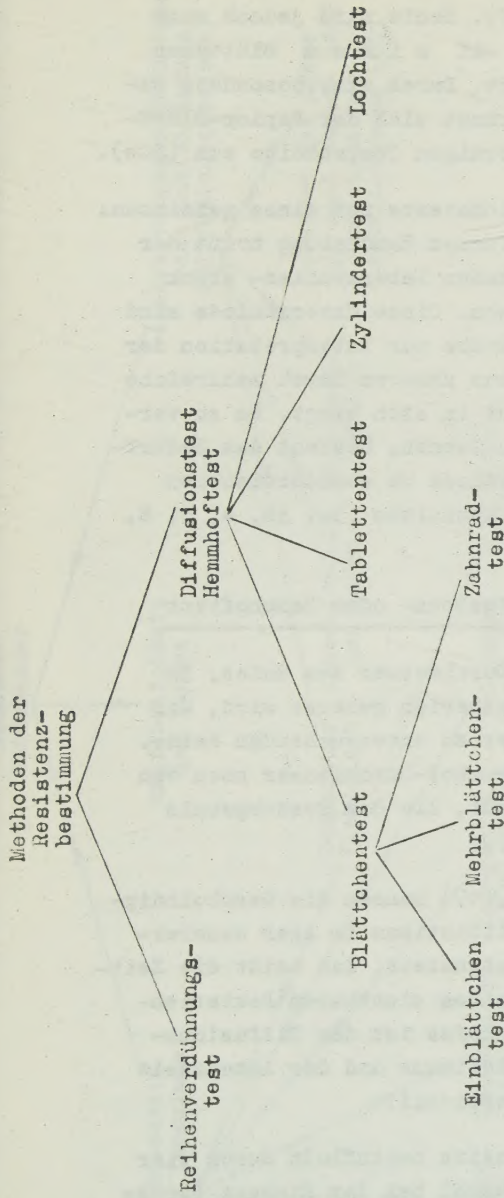


Abb.1 Übersicht über die verschiedenen Methoden der Resistenzbestimmung

trationen verwandte (1, 14). Heute wird jedoch vorwiegend der Blättchentest mit einem Blättchen pro Antibiotikum ausgeführt. Durch eine besonders rationelle Arbeitsweise zeichnet sich der Papier-Blättchentest mit der zahnradförmigen Testscheibe aus (20b).

Allen Methoden des Diffusionstests ist eines gemeinsam: Neben den Vorteil der einfachen Handhabung tritt der Nachteil von -in verschiedenen Laboratorien- stark variierenden Testergebnissen. Diese Unterschiede sind einmal durch fehlende Maßstäbe zur Interpretation der Versuche bedingt (7) und zum anderen durch zahlreiche Fehlerquellen, die der Test in sich birgt. Um zu vergleichbaren Ergebnissen zu kommen, besteht das Bedürfnis, diese Untersuchungsmethode zu standardisieren und die Fehlerquellen auszuschalten (3a, 3b, 4, 5, 8, 9, 11).

2. Fehlerquellen beim Diffusions- oder Hemmhofest

Beim Hemmhofest ist der Durchmesser des Hofes, in dem die Ausbreitung der Bakterien gehemmt wird, Maß für die Empfindlichkeit der zu untersuchenden Keime. Darüber hinaus wird der Hemmhof-Durchmesser noch von weiteren Faktoren beeinflusst, die das Testergebnis verfälschen können (Abb.2).

KLEIN und Mitarbeiter (16, 17) nennen die Geschwindigkeit, mit der sich das Antibiotikum im Agar ausbreitet, und zum andern die Latenzzeit, das heißt die Zeitspanne bis zum Auftreten eines sichtbaren Bakterienrasens. Die Größe des Hemmhofes ist der Diffusionsgeschwindigkeit des Antibiotikums und der Latenzzeit des Inokulums direkt proportional!

Die Latenzzeit wird ihrerseits beeinflusst durch vier Größen: (1) durch die Keimzahl bei der Einsaat (große

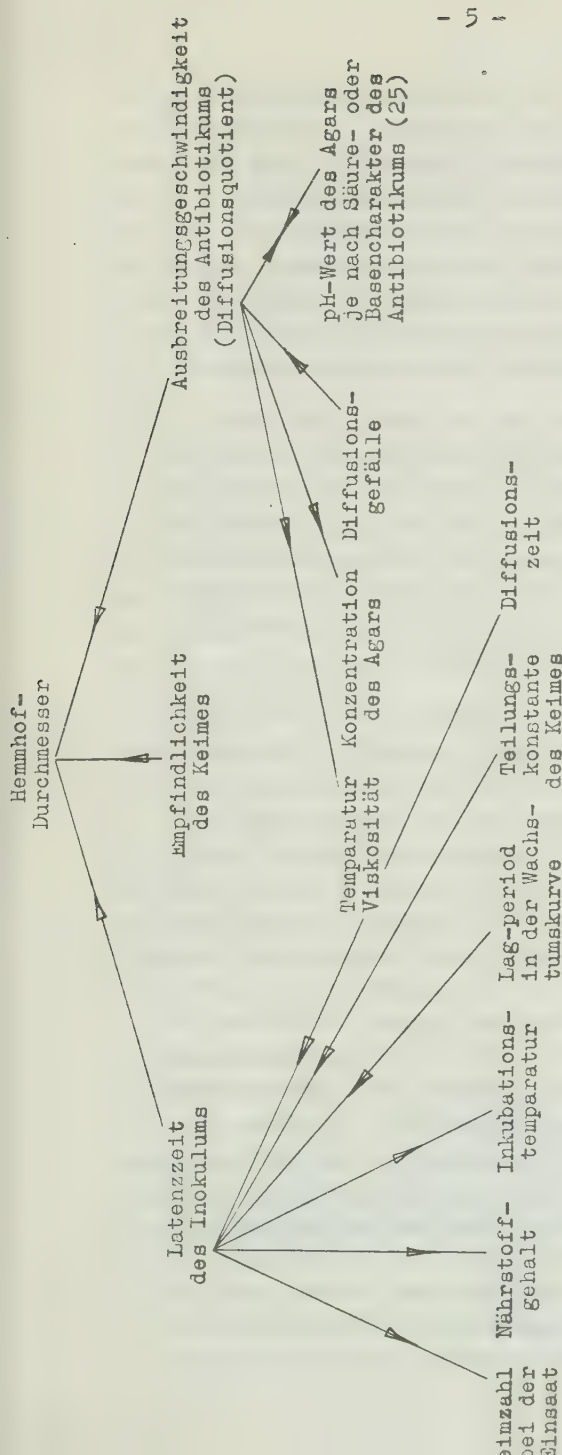


Abb.2 Faktoren, die die Größe des Hommhof-Durchmessers beeinflussen.
Aufwärts gerichtete Pfeile bedeuten direkte Proportionalität.

Keimzahl bewirkt schnelleres Anwachsen der Keime und verkürzt damit die Latenzzeit); 2. durch die Art des Nährmediums (größere Konzentration des Nährsubstrats im Agar verkleinert die Latenzzeit); 3. durch die Wachstumsphase der Keime (Keime in der logarithmischen Phase des Vermehrungszyklus zeigen eine kürzere Latenzzeit als solche in den übrigen Phasen); 4. durch die Teilungsgeschwindigkeit als gleichbleibende Eigenschaft eines Bakterienstammes.

Auf die besondere Bedeutung des Nährmediums beim Diffusionstest weist TRAINER hin (24). Zu den oben genannten Faktoren fügt er einen weiteren hinzu: Er macht darauf aufmerksam, daß schon ein geringer Gehalt an Metallionen im Agar das Chemotherapeutikum inaktivieren kann. So wird zum Beispiel die Wirkung der Tetracycline sehr leicht durch die Anwesenheit von Eisen und Mangan vermindert.

Genauere quantitative Untersuchungen der Beeinflussung des Hemmhof-Durchmessers durch die Größe des Inokulums verdanken wir COOPER, LINTON und Mitarbeitern (6, 19). Sie zeigen, daß die Hemmhofgröße in dem Zeitpunkt fixiert wird, in dem das durch den Agar diffundierende Antibiotikum auf eine bestimmte Keimzahl pro ml Agar trifft. Diese 'kritische Keimdichte' ist für eine Bakterienart konstant und liegt zum Beispiel für *Klebsiellae pneumoniae* bei $1,58 \times 10^7$ Keimen pro ml Agar. Diese Ergebnisse entstanden sowohl auf experimentiellem Wege als auch rechnerisch mit einer von COOPER und WOODMAN 1946 für die Diffusion im Agar angegebenen Formel (6). Die Ergebnisse erklärt LINTON (19) folgendermaßen: Die kritische Keimdichte sei die Zahl, bei der gerade soviel Antibiotikum von den Zellen absorbiert werde, daß der Antibiotikaspiegel unter den minimalen Hemmungsspiegel sinke. Die genannten Autoren haben ferner einen Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Latenzzeit und damit auf den Hemmhof-Durchmesser festgestellt.

Auf der anderen Seite ist auch die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Wirkstoffs im Agar (Diffusionskoeffizient in mm^2/h) von mehreren Faktoren abhängig. Sie sinkt nach GILLISSEN (10) mit steigender Temperatur durch die zunehmende Viskosität des Agars und mit steigender Agarkonzentration. Sie steigt mit zunehmendem Diffusionsgefälle, und sie steigt oder sinkt je nach dem Säure- oder Basencharakter des Antibiotikums und dem pH -Wert des Agars (25).

Der Hemmhof wird gebildet in der Zeit, die bis zum Erreichen der kritischen Keimdichte verstreicht. Die Einflüsse von der Keimseite sind in dem Begriff 'Latenzzeit des Inokulums' zusammengefaßt. Die gleiche Zeit bleibt dem Antibiotikum zur Diffusion in den Agar. Die Größe des Hemmhofes ist damit der Diffusionsgeschwindigkeit des Wirkstoffes direkt und der Wachstumsgeschwindigkeit der Keime umgekehrt proportional.

In den bisherigen Überlegungen ist jedoch noch nicht der Diffusionsschritt vom Papier in den Agar berücksichtigt. Als weiterer möglicher Einflußfaktor auf die Diffusionsgeschwindigkeit und damit auf die Hemmhofgröße sind also -beim Papier-Blättchentest- Eigenschaften des verwendeten Papiers zu untersuchen (18). Hiernit beschäftigt sich die vorliegende Arbeit.

3. Aufgabenstellung

Aus dem Thema wird die folgende grundlegende Frage abgeleitet: Ist der Stoffübergang vom Papier in den Agar (1. Diffusionsschritt) von der Art des Papiers und / oder von Eigenschaften des Wirkstoffes abhängig?

Diese Frage lässt sich in Teilfragen aufgliedern:

1. Wie groß ist die Diffusionsgeschwindigkeit (=radialer Diffusionsweg pro Zeiteinheit) gemessen am Hemmhof-Durchmesser nach einer bestimmten Diffusionszeit?
 - 1.1 Bestehen für die verschiedenen Antibiotika oder Antibiotika-Konzentrationen relative¹ Unterschiede in der Diffusionsgeschwindigkeit bei einer bestimmten Papiersorte?
 - 1.2 Bestehen Unterschiede in der Diffusionsgeschwindigkeit für ein bestimmtes Antibiotikum bei verschiedenen Papiersorten?
2. Wie groß ist die abgegebene Menge (oder aber die Restmenge im Blättchen) nach einer bestimmten Diffusionszeit?
 - 2.1 Wie groß ist die abgegebene Menge bei verschiedenen Antibiotika für eine Papiersorte?
 - 2.2 Wie groß ist die abgegebene Menge bei einem bestimmten Antibiotikum für verschiedene Papiersorten?
3. Wie sind die Ergebnisse der Fragen 1 und 2 zu erklären?

1) Ein Vergleich der absoluten Werte für die verschiedenen Antibiotika bei einer Papiersorte ist nicht möglich wegen der unterschiedlichen Empfindlichkeit des Testkeims für die einzelnen Substanzen, wegen der verschiedenen Konzentration der Wirkstoffe und wegen eventueller ungleicher Diffusionsgeschwindigkeiten im Agar selbst.

ZWEITER TEIL: Eigene Untersuchungen

(A) Material und Methodik

1. Papiersorten

Die untersuchten Papiere stellte die Firma Schleicher und Schüll zur Verfügung. Die ausgestanzten Blättchen hatten einen Durchmesser von 5,7 mm. Die Menge des von einem Blättchen aufgesaugten Aqua dest. und das Eigengewicht des Blättchens wurden bestimmt und zueinander ins Verhältnis gesetzt (30). Es handelt sich um folgende Papiersorten:

Schleicher und Schüll Nr.	Grund- material	Eigen- gewicht pro Bl. (mg)	Absorb. Aqua dest. (mg)	Saugkraft ¹
22	Zellstoff	4,3	9,0	2,1
22 W	Zellstoff	5,0	13,0	2,6
23 S	Zellstoff	6,0	11,5	1,9
598 L	Linters	3,4	7,9	2,3
2316	Linters	3,9	9,0	2,3
2317	Linters	3,5	6,8	1,9
2668	Linters	7,3	23,3	3,2
2043a	Linters	3,1	4,0	1,3
287	Zellstoff ²	4,6	12,6	2,7
BF	Zellstoff	4,5	7,6	1,7
2071	Linters	16,2	21,6	1,3

1) Saugkraft = Absorb. Aqua dest. / Eigengewicht

2) Zellstoff + Baumwolle + 20% Kieselgur

2. Chemotherapeutika

Um zu prüfen, ob eines der wichtigsten Antibiotika eine besondere Affinität zu einer der verwendeten Papiersorten zeigt, d.h. ob es in einer Papierart besonders lange haften bleibt, wurden die wichtigsten Substanzen untersucht, die im Hygiene-Institut München bei der routinemäßigen Resistenzbestimmung verwendet werden. Wie die folgende Zusammenstellung zeigt, wurden die Chemotherapeutika in Form handelsüblicher Präparate benutzt. Mit Ausnahme des Terramycins waren alle Substanzen gut wasserlöslich. Zur Herstellung der Testlösungen brauchten daher keine Lösungsmittel verwendet werden, die das Versuchsergebnis beeinträchtigen könnten (20).

Folgende Substanzen wurden untersucht:

GANTRISIN	Gantrisin ^R	Hoffmann La Roche AG
SUPRONAL	Solu-Supronal ^R	Bayer
PENICILLIN	Penicillin-G-Na ^R	Chemie Grünenthal GmbH
ERYTHROMYCIN	Erycinum ^R	Schering AG
OLEANDOMYCIN	Matromycin ^R	Pfizer + Co, New York
SPIRALYCIN	Selectomycin ^R	Chemie Grünenthal GmbH
KANALYCIN	Kanamytrex ^R	C.H. Boeringer Sohn, Ingelheim
STREPTOLYCIN	Dihydro-Streptomycinsulfat ^R	Chemie Grünenthal GmbH
TETRACYCLIN	Tetracycl ^R	Pfizer + Co, New York
OXYTETRACYCLIN	Terramycin ^R 1	Pfizer + Co, New York
DEMETHYLCHLORTETRACYCLIN	Ledermycin ^R	Lederle, Cyanamid GmbH, München
METHYLEN-OXYTETRACYCLIN	Methacyclin ^R Rondomycin ^R	Pfizer + Co, New York
POLYMYXIN	Polymycin B-sulfat ^R	Pfizer GmbH, Karlsruhe
NOVOBIOCIN	Inamycin ^R	Hoechst
CHLORAMPHENICOL	Paraxin ^R	C.H. Boeringer Sohn, Ingelheim

1) Terramycin wurde durch Zugabe einiger Tropfen 1/10 n NaOH in Lösung gebracht.

Die Konzentrationen wurden so gewählt, daß die in den Agar diffundierten Mengen den mittleren Serum- und Gewebsspiegeln entsprechen, die bei den in der Therapie üblichen Dosierungen erreicht werden. Bei den Tetracyclinen, bei Polymyxin, Novobiocin, Penicillin und Streptomycin wurde die Wirkstoffmenge pro Blättchen variiert, um eine eventuelle Affinität des Wirkstoffes zum Papier (s.o.) zu verdeutlichen. Die Wirkstoffmengen für ein einzelnes Blättchen betragen bei

Gantrisin	2000 mcg
Supronal	2000 mcg
Penicillin	0,5 OE und 2,0 OE
Erythromycin	8 mcg
Oleandomycin	8 mcg
Spiramycin	8 mcg
Kanamycin	20 mcg
Streptomycin	20 mcg und 50 mcg
Tetracycline	10 mcg und 30 mcg und 60 mcg
Polymyxin	20 mcg und 50 mcg
Novobiocin	10 mcg und 30 mcg
Chloramphenicol	12 mcg

3. Testkeime

Da sich diese Arbeit nur mit dem ersten Diffusionsschritt des Wirkstoffes vom Blättchen in den Agar befaßt, habe ich nur Papiersorten und Antibiotika variiert und alle anderen Versuchsbedingungen des Hemmhoftests konstant gehalten. Testkeim war der *Bacillus cereus* ATCC 9634. Dieser Keim erwies sich jedoch gegen Penicillin als resistent. Daher verwendete ich bei dieser Substanz *Staphylococcus aureus* SG 511.

Bacillus cereus wurde in Form einer Sporensuspension dem Agar zugesetzt. Damit konnte ich bei allen Versu-

chen von derselben Phase im Vermehrungszyklus des Testkeims ausgehen. Zur Herstellung der Sporensuspension wurde der Keim in 10 ml Peptonbouillon gegeben und 56 Stunden bei 37° C bebrütet. Der Agar zur Züchtung der Bazillen enthielt:

6,0 g	Pepton
4,0 g	Kasein-Pepton
1,5 g	Fleischextrakt
3,0 g	Hefeextrakt
1,0 g	Dextrose
15-20 g	Fadenagar
1000 ml	Aqua dest.

Nach dem Sterilisieren stellte ich den ph-Wert auf 6,5 - 6,6 ein. Der Agar wurde in Kolleschalen gegossen, pro Schale 3 ml der bebrüteten Peptonbouillon ausgespatelt und anschließend eine Woche lang bei 30° C inkubiert.

Danach wurde der Bakterienrasen abgeschwemmt, die Suspension 30 Minuten auf 65° C erhitzt, dreimal mit sterilem Aqua dest. gewaschen, noch einmal für 30 Minuten bei 65° C im Wasserbad gehalten und dann im Kühlschrank aufbewahrt. Aus dieser Standard-Suspension stellte ich eine Gebrauchsverdünnung mit einer Keimzahl von $4,04 \times 10^{11}$ Keimen/ml her, die einen hinreichend dichten Rasen mit noch einzeln stehenden Kolonien ergab. Zum Herstellen der Straphylokokkensuspension wurden 10 ml Pepton-Bouillon mit Staphylococcus aureus SG 511 beimpft und 20h bei 37° C bebrütet.

4. Standard-Blättchen-Versuch

In 1000 ml Aqua dest. ließ ich 20 g Fadenagar über Nacht quellen, gab 25 g Pepton e carne und 5 g NaCl bei und stellte nach dem Sterilisieren auf pH 7,4 ein. Das verwendete Pepton e carne der Firma Merck enthält noch 0,1% Dextrose. Nach der Abkühlung auf

50° C gab ich zu je 100 ml dieses Peptonagars 1 ml der oben beschriebenen Sporensuspension, um ein konstantes Inokulum zu erhalten. Der beimpfte Agar wurde auf eine Glasplatte mit einer Auftragsfläche von 27 x 18 cm gegossen. Die Glasplatte ist durch zwei Wasserragen horizontal ausgerichtet. Diese Maßnahme garantiert eine in allen Versuchen gleichmäßige Schichtdicke des Agars und somit einerseits gleiches Nährstoffangebot für die Testkeime und andererseits ein gleichmäßiges Medium für die Diffusion der Wirkstoffe (2, 22). Der Agar erstarrte innerhalb von einer Stunde bei Zimmertemperatur. Bei den Versuchen mit Penicillin wurden 10 Ösen der mit Staphylokokken beimpften Bouillon gleichmäßig auf den Agar ausgespatelt.

Die Blättchen werden mit einer Mikropipette einzeln beschickt, so daß sie die oben angegebene Antibiotikamenge erhalten. Je ein Blättchen der verschiedenen Papiersorten legte ich mit einem bestimmten Abstand auf die Agarplatte, damit auch bei den größten Nennhöfen keine Interferenzerscheinungen auftreten konnten (15). Nach zwei Stunden Prädiffusion standen die Platten 24 Stunden bei 37° C im Brutschrank. In der Prädiffusionszeit ist die Zeit für den ersten Diffusionsschritt von Blättchen in den Agar bei allen Versuchen enthalten.

Den Hemmhof-Durchmesser las ich an einen unter der Glasplatte liegenden Maßstab ab. Ein hierbei möglicher Parallaxefehler ist unerheblich, da er alle Messungen im gleichen Maße beeinflussen würde und da hier nicht die absolute Hemmhofgröße, sondern nur relative Werte interessieren.

5. Variation 1: Verschiedene Diffusionszeiten

Um die Diffusionsgeschwindigkeit für verschiedene Antibiotika bei einer bestimmten Papiersorte und für

einen bestimmten Wirkstoff bei verschiedenen Papiersorten zu ermitteln (Fragen 1.1 und 1.2) wandelte ich den Standard-Versuch folgendermaßen ab:

Nach dem Auflegen der Blättchen werden je Papiersorte, Antibiotikum und Wirkstoff-Konzentration je ein Blättchen nach 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 40 und 80 Minuten Diffusionszeit wieder abgenommen. Der Agar kommt nach zwei Stunden Prädiffusion 24 Stunden bei 37° C in den Brutschrank. Je ein Blättchen bleibt zur Kontrolle der Inkubationszeit auf dem Agar liegen.

6. Variation 2: Wiederholtes Auflegen der Blättchen

Am Beispiel eines schlecht diffundierenden Wirkstoffs, des Tetracyclins und dreier seiner Derivate (Oxy-, Demethylchlor- und Methylenoxytetracyclin untersuchte ich die Frage, welche Wirkstoffmenge nach der Diffusion noch in den Blättchen enthalten ist (Frage 2.2).

Die wie oben beschickten Papier-Blättchen werden nach 24 Stunden Diffusion abgenommen und auf einen frisch beimpften Agar zur erneuten Diffusion aufgelegt. Dieser Vorgang wird in 24-stündigem Abstand so oft wiederholt, bis sich kein Hemmhof mehr bildet (20d). Die Gesamtfläche aller Hemmhöfe gibt ein Maß für die abgegebene Wirkstoffmenge.

7. Photometrische Versuche

Bei den photometrischen Versuchen werden beimpfte Papierblättchen in Flüssigkeit getaucht und die Menge des abgegebenen Wirkstoffes nach bestimmten Zeitintervallen mit dem Eppendorf-Photometer gemessen. Es handelt sich um einen Modellversuch für den ersten Diffusionsschritt.

Untersuchte Wirkstoffe waren wiederum die Tetracycline wie bei den Versuchen mit wiederholtem Auflegen der Blättchen; Voraussetzung für die Messung bildete die Tatsache, daß diese Stoffe UV-Strahlen absorbieren. Tetracyclin wurde in methanolischer 0,1 n HCl bei 366 m μ gemessen (31), Oxytetracyclin in Aqua dest. ebenfalls bei 366 m μ (31). Für Demethylchlortetracyclin und Methylenoxytetracyclin stellte ich zunächst Absorptionskurven mit einem Beckmann-Spektralphotometer auf. Die Konzentration der Meßlösung betrug 10 mcg/ml Aqua dest. (Abb. 3-4). Demethylchlortetracyclin wurde gleichfalls in Aqua dest. bei 366 m μ und Methylenoxytetracyclin in Aqua dest. bei 345 m μ gemessen. Für alle Substanzen stellte ich Eichkurven auf, bevor ich mit der eigentlichen Messung beginnen konnte.

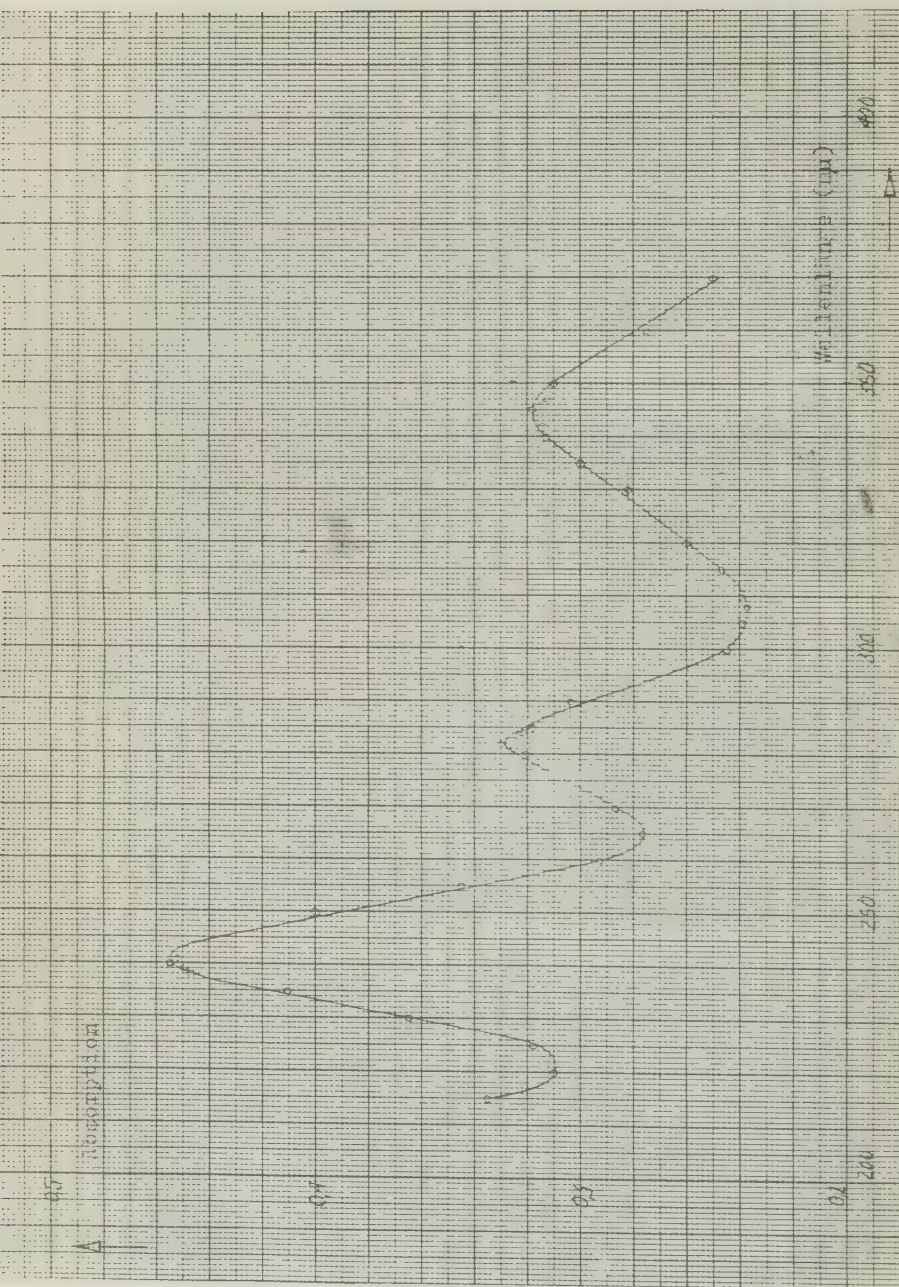


Abb. 3 Absorptionskurve für Methylonoxytetracyclin

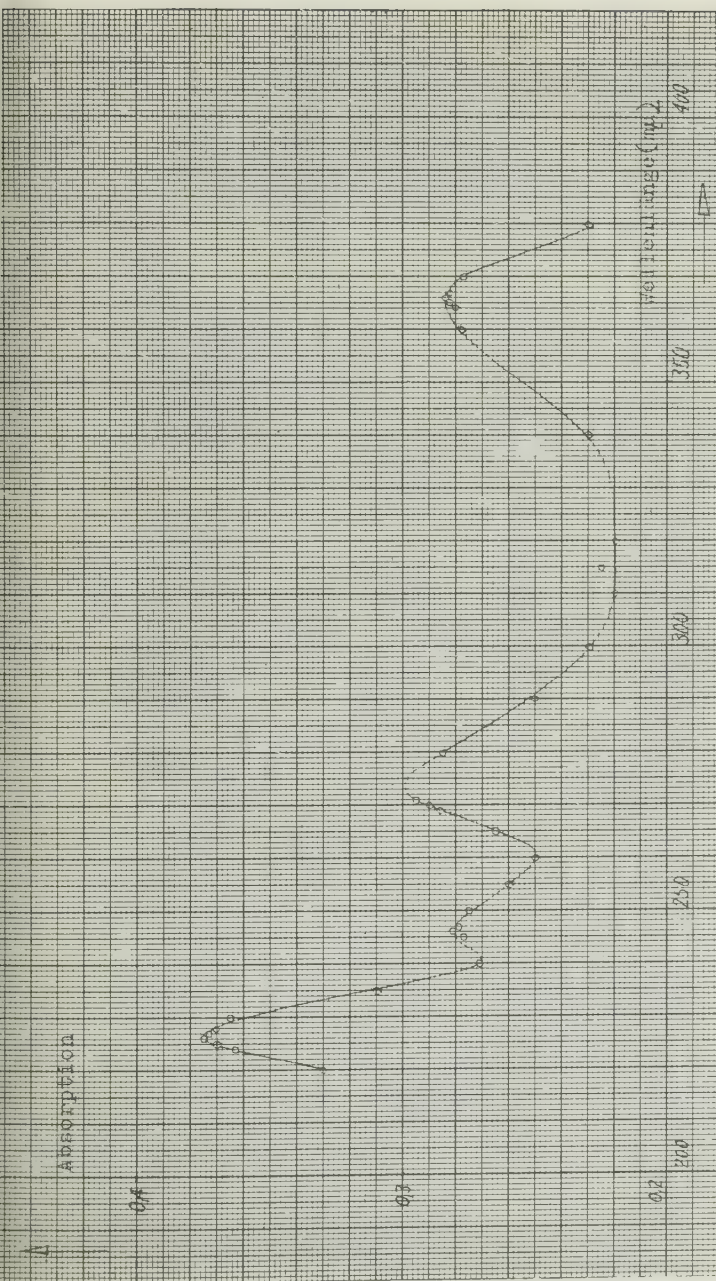


Abb. 4 Absorptionskurve für Denethylchlorotetracyclin

(B) Ergebnisse

1. Diffusionsgeschwindigkeit

Der Standard-Blättchen-Versuch und die Variation 1 bringen Antworten auf die Frage nach Unterschieden in der Diffusionsgeschwindigkeit bei verschiedenen Papiersorten.

Die Hemmhofgröße in Abhängigkeit von der Papierart hat bereits GREWE untersucht (12). Er stellt eindeutige Unterschiede im Hemmhof-Durchmesser fest und führt seine Ergebnisse auf die bei den einzelnen Papieren differierende Saugfähigkeit der Blättchen zurück: Größere Saugkraft ergebe ceteris paribus größere Hemmhöfe. Diese Aussage wird zunächst überprüft.

In Tabelle 5 sind für den Wirkstoff Erythromycin die untersuchten Papiersorten in der ersten Spalte nach ihrer Saugkraft gereiht. Als Maß für die Saugfähigkeit diene der Quotient aus der Menge des absorbierten Aqua dest. und dem Eigengewicht eines Blättchens. Die dritte und vierte Spalte zeigen den Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und 20 min jeweils in % des Wertes, den ein Kontroll-Blättchen nach 24 h erreichte. Die Tabelle zeigt deutlich, daß zwischen der Saugkraft der Papiere und dem Hemmhof-Durchmesser und damit der Diffusionsgeschwindigkeit keine Zusammenhänge festgestellt wurden.

Papiersorte Nr.	Saug- kraft	Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion	
		nach 1 min	nach 20 min
2071	1,3	71,4 %	88,6 %
2043a	1,3	87,5 %	100,0 %
23 S	1,9	66,0 %	84,7 %
2317	1,9	80,0 %	92,5 %
22	2,1	75,8 %	97,0 %
BF	2,1	82,2 %	97,4 %
598 L	2,3	80,0 %	100,0 %
2316	2,3	75,0 %	92,5 %
22 W	2,6	72,3 %	91,8 %
287	3,2	75,0 %	100,0 %
2668	3,2	67,5 %	72,5 %

Tabelle 5: Erythromycin, 8 mcg/Blättchen

Die Papiersorten sind nach der Saugfähigkeit gereiht.
Als Maß für die Saugkraft dient der Quotient aus der
Menge absorbierten Aqua dest. und dem Eigengewicht
eines Blättchens.

In Tabelle 6 - 8 sind die Papiersorten nicht mehr nach Saugkraft, sondern nach Gewicht geordnet. Erythromycin wurde in der Konzentration 8 mcg/Blättchen untersucht, Tetracyclin in 10, 30 und 60 mcg/Blättchen und Penicillin in 0,5 und 2 Einheiten/Blättchen. Der Hemmhof-Durchmesser ist wieder in % des 24 h-Wertes angegeben und zwar für Diffusionszeiten von 1 min und 20 min. Hier zeigt sich nun eine deutliche Abnahme des Hemmhof-Durchmessers und damit der Diffusions-Geschwindigkeit mit steigendem Gewicht des Papierblättchens. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist dem Papiergewicht umgekehrt proportional.

Den mit Abstand größten Hemmhof-Durchmesser gewinnt man mit der Papiersorte 2043a, die das kleinste Eigengewicht von nur 3,1 mg/Bl. aufweist. Die Minima der Hemmhöfe liegen nicht jedesmal bei der schwersten Papierart, aber doch immer bei einer der drei schwersten Sorten. Diese Schwankungen lassen sich vielleicht dadurch erklären, daß die Blättchen beim Auflegen verschieden stark an die Agar-Oberfläche ange-drückt wurden und die Diffusion bei einzelnen Papiersorten durch eine Luftschicht zwischen Papier und Nährboden verzögert einsetzte.

Das im Großen einheitliche Bild der Tabellen wird durch die Werte für Papiersorte BF (und 22) gestört. Nun sind die Gewichts-differenzen zwischen den Papieren 598 L, 2317, BF, 287 und 2316 sehr gering, sie betragen nur 1/10 und 3/10 mg. Schwankungen in diesem Gewichtsbereich sind daher leicht erklärbar.

Papiersorte Nr.	Gewicht pro Bl.	Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion	
		nach 1 min	nach 20 min
2043a	3,1	87,5 %	100,0 %
598 L	3,4	80,0 %	100,0 %
2317	3,5	80,0 %	92,5 %
BF	3,6	82,2 %	97,4 %
287	3,9	75,0 %	100,0 %
2316	4,0	75,0 %	92,5 %
22	4,3	75,8 %	97,0 %
22 W	5,0	72,3 %	91,8 %
23 S	6,0	66,7 %	84,7 %
2668	7,3	67,5 %	72,5 %
2071	16,2	71,4 %	88,6 %

Tabelle 6: Erythromycin, 8 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und nach 20 min in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion.
Die Papiersorten sind nach dem Gewicht gereiht.

Papiersorte Nr.	Gewicht pro Bl. (mg)	Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion	
		nach 1 min	nach 20 min
2043a	3,1	67,8 %	113,0 %
598 L	3,4	52,9 %	94,2 %
2317	3,5	60,6 %	96,9 %
BF	3,6	62,4 %	96,8 %
287	3,9	62,4 %	87,4 %
2316	4,0	45,4 %	100,0 %
22	4,3	53,4 %	100,0 %
22 W	5,0	35,3 %	85,3 %
23 S	6,0	36,7 %	90,0 %
2668	7,3	46,4 %	57,2 %
2071	16,2	30,0 %	66,6 %

Tabelle 7a: Tetracyclin 10 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und 20 min Diffusionszeit in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion. Die Papiere sind nach dem Gewicht gereiht.

Papier- sorte Nr.	Gewicht pro Bl. (mg)	Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion			
		nach 1 min	nach 20 min	nach 1 min	nach 20 min
		30 mcg/Bl.		60 mcg/Bl.	
2043a	3,1	73,0 %	97,3 %	80,5 %	108,3 %
598 L	3,4	60,0 %	102,8 %	67,6 %	91,8 %
2317	3,5	52,6 %	92,1 %	63,8 %	94,3 %
BF	3,6	65,7 %	100,0 %	75,0 %	100,0 %
287	3,9	57,1 %	-	69,4 %	100,0 %
2316	4,0	63,9 %	94,4 %	66,6 %	105,5 %
22	4,3	65,7 %	94,2 %	67,5 %	82,5 %
22 W	5,0	58,3 %	88,3 %	54,3 %	94,6 %
23 S	6,0	42,8 %	77,1 %	48,6 %	94,6 %
2668	7,3	37,9 %	67,6 %	51,4 %	97,1 %
2071	16,2	46,8 %	68,7 %	64,7 %	64,7 %

Tabelle 7b: Tetracyclin 30 und 60 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und 20 min Diffusionszeit in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion. Die Papiere sind nach dem Gewicht gereiht.

Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion					
Papier-sorte	Gewicht pro Bl.	nach 1 min	nach 20 min	nach 1 min	nach 20 min
		0,5 OE/Bl.		2 OE/Bl.	
2043a	3,1	0	90,2 %	84,0 %	100,0 %
598 L	3,4	0	128,0 %	55,6 %	85,2 %
2317	3,5	0	60,0 %	40,0 %	96,0 %
BF	3,6	0	85,3 %	61,2 %	102,0 %
287	3,9	0	82,0 %	28,6 %	100,0 %
2316	4,0	0	81,0 %	51,0 %	95,9 %
22	4,3	0	109,0 %	47,9 %	91,6 %
22 W	5,0	0	59,3 %	47,8 %	87,0 %
23 S	6,0	0	58,2 %	31,4 %	90,2 %
2668	7,3	0	0	31,3 %	83,3 %
2071	16,2	0	0	22,2 %	46,7 %

Tabelle 8: Penicillin, 0,5 und 2 OE/Blättchen

Testkeim *Staphylococcus aureus* SG 511. Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und 20 min Diffusionszeit. Die Papiersorten sind nach dem Gewicht gereiht.

Recht deutlich ist der Unterschied der Hemmhof-Durchmesser zwischen der leichtesten und der schwersten Papiersorte. Papier Nr. 2071 wiegt mit 16,2 mg/Bl. über fünfmal soviel wie das leichteste Papier Nr. 2043a. Bei Versuchen mit Tetracyclin (10 mcg/Bl.) und Penicillin (2 OE/Bl.) weist das schwerste Papier nach einer Minute Diffusionszeit noch nicht den halben Hemmhof-Durchmesser des leichtesten Papiers auf. Stünde als Maß der Diffusionsgeschwindigkeit nicht der Durchmesser, sondern die Fläche des Hemmhofes

$$F = \frac{\pi D^2}{4} ,$$

so würde der Unterschied zwischen den Papiersorten noch deutlicher werden, da die Fläche mit dem Quadrat des Durchmessers wächst.

Der Versuch mit Tetracyclin zeigt auch den Einfluß der Wirkstoff-Konzentration: Wachsende Konzentration und somit wachsendes Diffusionsgefälle bewirkt steigende Diffusionsgeschwindigkeit. Bei den höheren Konzentrationen nehmen die Unterschiede der Hemmhofgröße zwischen den verschiedenen schweren Papiersorten ab, die Einflußfaktoren Gewicht und Ausgangskonzentration überlagern sich.

In den Tabellen 6-8 liegt für manche Papiere der Hemmhof-Durchmesser nach 20 min Diffusionszeit über 100 %. Das heißt, der absolute Wert nach 20 min lag über dem Kontrollwert nach 24-stündiger Diffusion. Diese Schrumpfung des Hemmhofs wird durch das 'Umkippen' des Randwalls von Bakterien ringsum den Hemmhof erklärt (21). Durch laufende Vermehrung der Keime (Überschreiten der kritischen Keimdichte) können ferner sovielen Wirkstoffteilchen gebunden werden, daß die Antibiotika-Konzentration am Rande des Hemmhofs sinkt. Einzelne Keime wachsen in den ursprünglichen Hemmhof hinein und nützen die besseren Nährstoffbedingungen aus.

Bei den meisten Papieren erreichte der Hemmhof-Durchmesser schon nach 1 min Diffusionszeit 50 % und mehr des Wertes nach 24 h. Beim Blättchentest sind also schon die ersten Diffusions-Minuten von großer Bedeutung. Auf diese Tatsache wird bei der Beurteilung der photometrischen Versuche zurückgegriffen.

Tabelle 9 zeigt die Versuchsergebnisse für den Wirkstoff Novobiocin. Die niedrigere Konzentration 10 mcg/Bl. liegt gerade im Grenzbereich der Empfindlichkeit des Testkeims. In Spalte 1 und 2 sind wiederum die Papiersorten nach Gewicht geordnet aufgeführt. Bei beiden Konzentrationen und für beide Diffusionszeiten wurde das Auftreten eines Hemmhofes mit einem Kreuz, das Ausbleiben durch eine leere Stelle gekennzeichnet. Das Auftreten eines Hemmhofes ist ein Maß für größere, das Ausbleiben für kleinere Diffusionsgeschwindigkeit.

Wiederum zeigt sich deutlich der Einfluß sowohl des Papier-Gewichts als auch der Wirkstoff-Konzentration auf die Diffusionsgeschwindigkeit. Bei der Konzentration 10 mcg/Bl. reichen 2 min Diffusionszeit bei allen Blättchen gerade noch nicht aus, um einen Hemmhof zu erzeugen. Bei 3, 4 und 5 min Diffusionszeit rufen nur die beiden leichtesten Papiere Hemmhöfe hervor, und erst nach 24 h zeigen alle Papiersorten ein 'positives' Resultat. Unser Ergebnis wird also bestätigt: Die Diffusionsgeschwindigkeit wächst mit sinkendem Gewicht des Papierblättchens und mit zunehmender Wirkstoff-Konzentration.

Papier- sorte Nr.	Gewicht mg/Bl.	10 mcg/Blättchen Diffusionszeiten										30 mcg/Blättchen Diffusionszeiten									
		1'	2'	3'	4'	5'	10'	20'	24h			1'	2'	3'	4'	5'	10'	20'	24h		
598 L	3,4			+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2317	3,5			+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2316	4,0						+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	4,3						+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22 W	5,0							+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23 S	6,0							+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2668	7,3								+					+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle 9: Novobiocin 10 und 30 mcg/Blättchen

Hemmhofbildung (+) nach verschiedenen Diffusionszeiten, Papiersorten nach Gewicht gereiht.

Zur Diffusionsgeschwindigkeit ist noch eine zweite Frage zu stellen: Bestehen für die verschiedenen Wirkstoffe relative Unterschiede in der Diffusionsgeschwindigkeit bei einer Papiersorte?

In Tabelle 10 sind wiederum die Hemmhof-Durchmesser nach 1 min und nach 20 min Diffusionszeit in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion aufgeführt. Von den untersuchten Papieren wurden die beiden leichtesten, eine mittlere und die schwerste Sorte ausgewählt. Die Namen der Wirkstoffe und die Konzentrationen füllen die beiden ersten Spalten.

Die Tabelle zeigt deutlich, daß in der Hemmhofgröße und Diffusionsgeschwindigkeit zwischen den einzelnen Wirkstoffen große Unterschiede bestehen. Erythromycin und Oleandomycin weisen bei allen Papiersorten die größte Diffusionsgeschwindigkeit auf, Gantrisin und Penicillin nur bei den leichteren Papieren. Spiramycin, Kanamycin, Streptomycin, Tetracyclin und Novobiocin zeigen durchweg geringere Diffusionsgeschwindigkeiten, Chloramphenicol und besonders Polymyxin liegen noch darunter. Da dieses Ergebnis aus Prozentwerten stammt, ist die Keimempfindlichkeit ausgeschaltet. Im übrigen gelten jedoch für diese Vergleiche die schon bei der Aufgabenstellung gemachten Vorbehalte.

Hier wird also die schon bekannte Feststellung bestätigt, daß unterschiedliche Chemotherapeutika bei gleichem Nährboden, gleichem Testkeim und gleicher Papiersorte verschiedene Diffusionsgeschwindigkeiten zeigen. Dies hängt mit physikalisch-chemischen Eigenschaften (Wasserlöslichkeit, Molekülgröße, Eiweißbildung) der Substanzen zusammen.

Aus Tabelle 10 läßt sich noch ein weiteres Ergebnis ablesen: Die These, daß die Diffusionsgeschwindigkeit mit abnehmendem Papiergewicht steigt, gilt nicht nur

Wirkstoff		Konzentration (mg/Bl.)	Papiersorte Nr.							
			2043a		598 L		22		2071	
			3,1 mg/Bl.		3,4 mg/Bl.		4,3 mg/Bl.		16,2 mg/Bl.	
			Hemmhof-Durchmesser in % des 24h-Wertes nach							
			1min	20min	1min	20min	1min	20min	1min	20min
Gantrisin	2000		90,0	116,5	63,7	97,0	24,0	80,9	0	24,2
Penicillin	2 E/Bl.		84,0	100,0	55,6	85,2	47,9	91,6	22,2	46,7
Erythromycin	8		87,5	100,0	80,0	100,0	75,8	97,0	71,4	88,6
Oleandomycin	8		88,2	98,7	80,7	96,8	64,5	93,5	55,7	79,0
Spiramycin	8		57,0	90,5	50,0	82,2	50,0	57,7	40,0	52,8
Kanamycin	20		40,3	100,0	0	118,0	30,2	95,7	0	54,6
Streptomycin	20		55,3	95,5	50,0	88,6	43,8	71,8	28,9	67,3
Tetracyclin	10		67,8	113,0	52,9	94,2	53,4	100,0	30,0	66,6
Poly-myxin	20		42,8	121,5	0	0	0	0	0	0
Novobiocin	30		-	-	38,5	84,5	52,0	72,0	-	-
Chloramphenicol	12		40,1	97,8	0	104,1	0	79,1	0	57,8

Tabelle 10

Hemmhof-Durchmesser in Prozent des Wertes nach 24-stündiger Diffusion.

für die schon erwähnten, sondern allgemein für alle untersuchten Wirkstoffe.

Für die Schwankungen der Hemmhof-Durchmesser - besonders bei niederen Diffusionszeiten - kann grundsätzlich auch der pH-Wert des geprüften Papiers eine Rolle spielen. Nach Stoll und Mitarbeitern (25) zeigen Antibiotika mit Säurecharakter (z.B. Tetracyclin) bei niederen pH-Werten eine stärkere Wirksamkeit als bei hohen, und umgekehrt nimmt die Wirkung eines Antibiotikums mit Basencharakter (z.B. Streptomycin) mit steigendem pH-Wert zu. Die hier verwendeten Papiersorten wurden auf zweierlei verschiedene Weisen untersucht¹.

1. Auf Tropfen einer Indikatorlösung auf das Papier. Der pH-Wert wird durch Vergleich des sich bildenden Farbtons mit einer Farbtabelle bestimmt. H_2CO_3 in der Luft kann das Ergebnis verändern.

2. Eine bestimmte Menge geschnitzeltes Papier wird mit Aqua bidest. übergossen und der pH-Wert der Lösung festgestellt.

Die pH-Werte lagen nach beiden Methoden im sauren Bereich (pH-Mittelwerte 5 - 5,5). Wegen der geringen Schwankungen wurde ein Einfluß des pH-Wertes der Papiersorte auf die Versuche dieser Arbeit nicht angenommen. (26)

Damit sind die beiden ersten Fragen dieser Arbeit beantwortet: Die Diffusionsgeschwindigkeit wird sowohl durch Papier-Eigenschaften (Gewicht) als auch durch spezifische Wirkstoff-Eigenschaften bestimmt, deren genaue Natur hier jedoch nicht untersucht werden soll. Der Stoffübergang vom Papier in den Agar wird jedoch nicht nur durch die Diffusionsgeschwindigkeit beschrieben. Ein weiterer Ansatzpunkt ist die Diffusionsmenge, diejenige Wirkstoffmenge, die in einer bestimmten Diffusionszeit das Blättchen verläßt.

1) Für die Bestimmung der pH-Werte danke ich Frau Dr. Auguste Grüne, wissenschaftliche Mitarbeiterin der Firma Schleicher & Schüll.

2. Abgegebene Menge

Wird die abgegebene Menge Wirkstoff auf einen Zeitraum bezogen, so ist das Ergebnis streng genommen wiederum eine Geschwindigkeitsangabe. Dennoch bestehen zwischen dieser und der erstgenannten Diffusionsgeschwindigkeit Unterschiede, die eine getrennte Behandlung rechtfertigen.

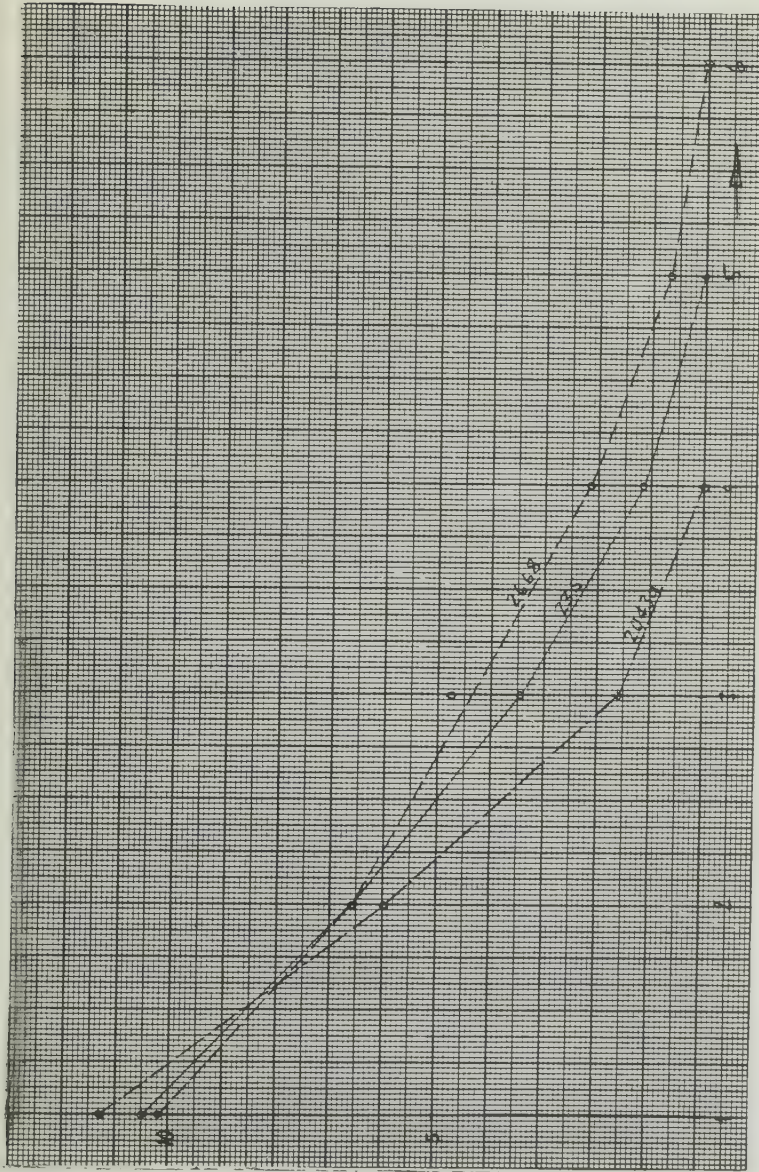
Im ersten Teil wurde die Diffusionsgeschwindigkeit als radialer Diffusionsweg pro Zeiteinheit, also als Ausbreitungsgeschwindigkeit im Agar, bestimmt. Der Meßpunkt lag auf dem Umfang des erzeugten Hemmhofes. Dabei interessierte besonders die Geschwindigkeitsspitze nach 1 min und 20 min Diffusionszeit.-In diesem Abschnitt ergibt sich aus der abgegebenen Wirkstoffmenge pro Zeiteinheit eine Art Durchflußgeschwindigkeit. Der Meßpunkt liegt hierbei auf dem Umfang des Papierblättchens selbst, es wird lediglich der erste Diffusionsschritt vom Papier in den Agar untersucht. Gefragt ist nicht mehr eine maximale Geschwindigkeit, sondern die Geschwindigkeitsverteilung über mehrere Tage hinweg bis zu dem Zeitpunkt, da die Wirkstoffabgabe so gering geworden ist, daß kein Hemmhof mehr gebildet wird.

Um die von einem Papierblättchen abgegebene Wirkstoffmenge zu ermitteln, sind zwei Methoden denkbar. Entweder versucht man, die abdiffundierende Menge direkt zu messen, (angewandt bei den photometrischen Versuchen, siehe unten!) oder man bestimmt sie auf dem Umweg über die Restmenge, die nach einer bestimmten Diffusions-

zeit noch im Blättchen zurückgeblieben ist. Diese Methode habe ich bei den Versuchen mit wiederholtem Auflegen der Blättchen benutzt (20d). Als Maß für die jeweils noch im Blättchen enthaltene Restmenge steht die Hemmhoffläche, die das Papier bei erneuter Diffusion erzeugt.

In Abbildung 11 bis 13 sind Ergebnisse dieser Versuchsreihe graphisch dargestellt. (Die üblich beschickten Blättchen wurden - wie schon beschrieben - jeweils nach 24-stündiger Diffusion auf eine frische Agarplatte aufgelegt und dies Verfahren sooft wiederholt, bis sich kein Hemmhof mehr bildete.) Auf der Ordinate ist die Hemmhoffläche in cm^2 aufgetragen, auf der Abszisse die Zahl der erzeugten Hemmhöfe. Der Schnittpunkt einer Kurve mit der Abszisse bedeutet Hemmhoffläche = 0, also kein Hemmhof mehr! Ein leichtes, ein mittleres und ein schweres Papier wurden als repräsentativ ausgewählt, ihr Verhalten ist dargestellt für Tetracyclin in den Konzentrationen 60, 30 und 10 mcg/Bl.

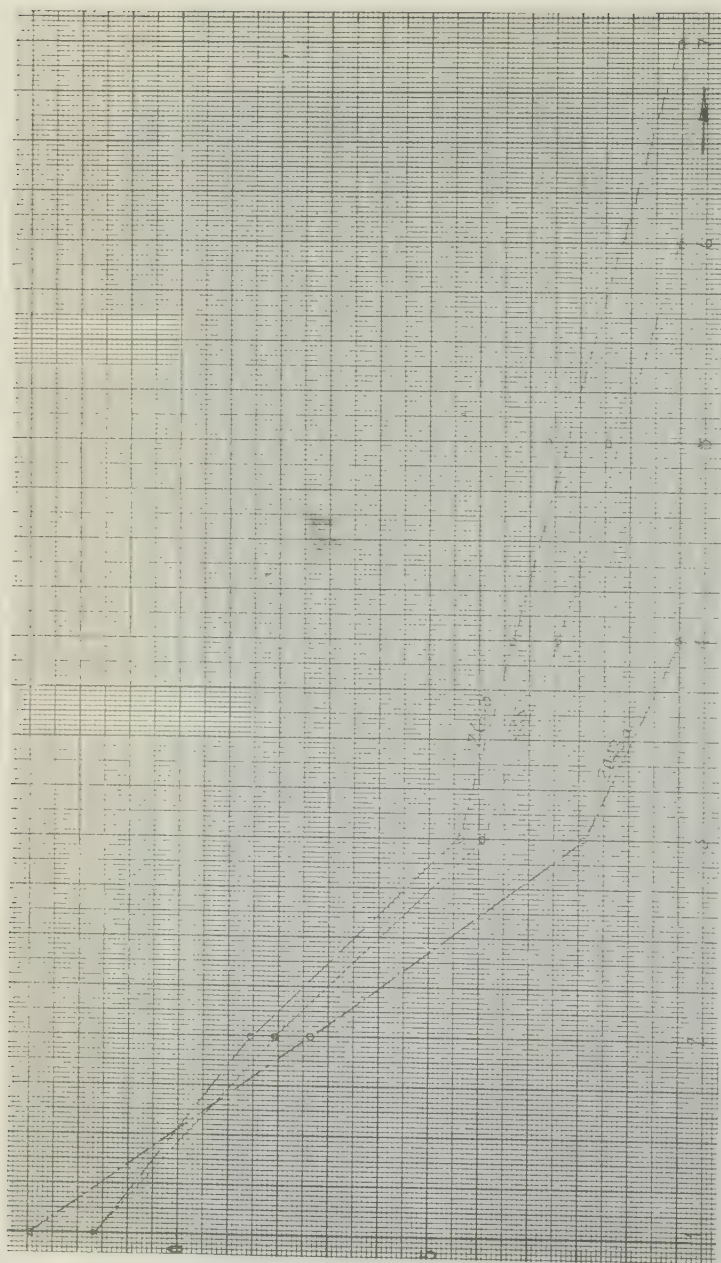
Grundsätzlich zeigen alle drei Versuche die gleiche Tendenz. In der Diffusionsperiode 1 wird von dem leichten Papier 2043a am meisten, vom schweren Papier 2668 am wenigsten abgegeben. Der 'Wirkstoff-Vorrat' des leichten Papiers ist dafür aber schneller erschöpft: In der zweiten Diffusionsperiode gibt es am wenigsten ab, in der dritten oder vierten Periode wird kein Hemmhof mehr erzeugt. Die Gesamtfläche aller erzeugten Hemmhöfe eines Blättchens ist - bei gleicher Ausgangsmenge - hier am geringsten. Vermutlich gelangen bei der schnelleren Abgabe größere Wirkstoffmengen in einen Bereich, in dem ihre Konzentration nicht mehr zur Hemmhofbildung ausreicht. Das Verhalten des schweren Papiers 2668 ist genau umgekehrt: Nach geringerer Abgabe in der ersten Periode erzeugt es bald die größten Hemmhöfe, sein Wirkstoff-Vorrat hält am längsten an. Die Unterschiede zwischen den drei Papiersorten vergrößern sich mit zunehmender Antibiotika-Beschickung.



Zahl der Hemmhöfe pro Blättchen

Hemmhof-fläche (cm²)

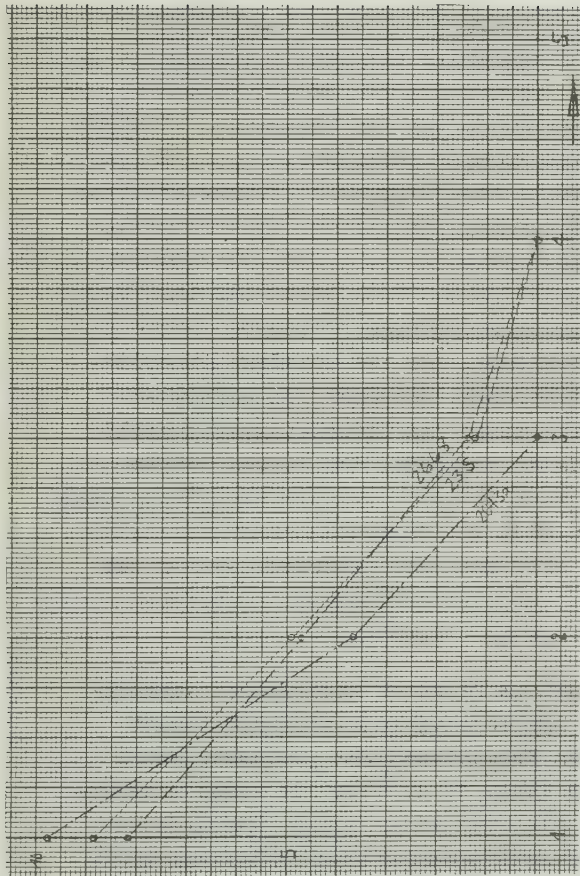
Abb. 11 Tetracyclin 20 mcg/Bl.



Hemhof-
fläche
(cm²)

Zahl der
Hemhöfe pro
Blättchen

Abb. 12 Tetracyclin 60 mg/Bt.



Zahl der
Hemmhöfe pro
Blättchen

Abb. 13. Tetracyclin 10 mcg/Bl.

Hemmfläche
(cm²)

Wurde bisher die abgegebene Menge bei einem Antibiotikum für mehrere Papiersorten dargestellt (Frage 2.2), so soll jetzt der Fall bei einem Papier und mehreren Wirkstoffen untersucht werden (Frage 2.1).

In Tabelle 14 sind in den ersten Spalten die Wirkstoffe Tetracyclin, Oxytetracyclin, Demethylchlortetracyclin und Methylenoxytetracyclin eingesetzt jeweils in den Konzentrationen 10, 30 und 60 mcg/Bl. Für das leichte Papier 2043a ist nun angegeben, wieviele Male insgesamt ein Hemmhof gebildet wird, wenn die Papiere nach jeweils 24-stündiger Diffusion auf eine frische Agarplatte aufgelegt werden. (Entsprechende Angaben sind vergleichsweise auch für die Papiere 23 S und 2071 eingetragen.) Hier fällt nun auf, daß bei der niedrigen Konzentration 10 mcg/Bl. keine nennenswerten Unterschiede, bei den höheren Konzentrationen dagegen erhebliche Schwankungen auftreten. Demethylchlortetracyclin und Methylenoxytetracyclin erzeugen die meisten Hemmhöfe. Von diesen beiden Wirkstoffen ist auch bekannt, daß sie besonders langsam diffundieren (7). Die Tendenzen sind grundsätzlich gleich für alle drei Papiersorten. Weiter sei bemerkt, daß die Zahl der gebildeten Hemmhöfe mit steigenden Papiergewicht zunimmt.

Die von den einzelnen Papieren abgegebenen Antibiotika-Mengen und die Abgabegeschwindigkeit lassen sich auch aus den Ergebnissen der photometrischen Versuche ablesen (Abb. 15 u. 16). Wie schon angedeutet handelt es sich hierbei um einen Modell-Versuch für den ersten Diffusionsschritt. Die Zeiten, nach denen die an die Flüssigkeit abgegebene Wirkstoffmenge gemessen wurden, sind nicht direkt übertragbar, doch genügen schon die relativen Zeitdifferenzen für die Auswertung.

Wirkstoff	Konzentration (mcg/Bl.)	Zahl der Hemmhöfe		
		Papier 2043a	Papier 23 S	Papier 2071
Tetracyclin	10	2	3	3
	30	3	4	5
	60	3	5	6
Oxytetracyclin	10	2	2	3
	30	2	3	4
	60	2	3	(3)
Demethylchlor- tetracyclin	10	2	4	4
	30	3	6	6
	60	5	8	8
Methylenoxy- tetracyclin	10	2	3	3
	30	2	4	3
	60	4	8	8

Tabelle 14: Zahl der insgesamt gebildeten Hemmhöfe

In den Abbildungen ist für Tetracyclin und Demethylchlortetracyclin 10 mcg/Bl. auf der Ordinate die an die Flüssigkeit abgegebene Wirkstoffmenge in mcg, auf der Abszisse die Zeit in min abgetragen. Dargestellt sind die Papiere 2043a, 22, 23S, 2668 und 2071.

In den Diagrammen werden die bereits ermittelten Unterschiede in den Eigenschaften der getesteten Papiersorten bestätigt: Je leichter das Papier, desto größer ist die in der Zeiteinheit abgegebene Wirkstoffmenge, oder, je schwerer das Papier, desto länger wird ein bestimmter Teil des Wirkstoffs im Blättchen zurückgehalten. Das 16,1 mg/Bl. schwere Papier 2071 hat nach zwei Stunden noch nicht 50 % des Wirkstoffs abgegeben, das leichteste Papier 2043a erreicht die halbe Konzentration schon nach vier Minuten. Die übrigen Papiere liegen zwischen diesen Extremwerten. Die ersten Diffusionsminuten sind beim Papierblättchentest besonders ergiebig.

Δ $\frac{\text{Temperature}}{\text{Time}} \text{ (100°)}$

2043a

22

23S

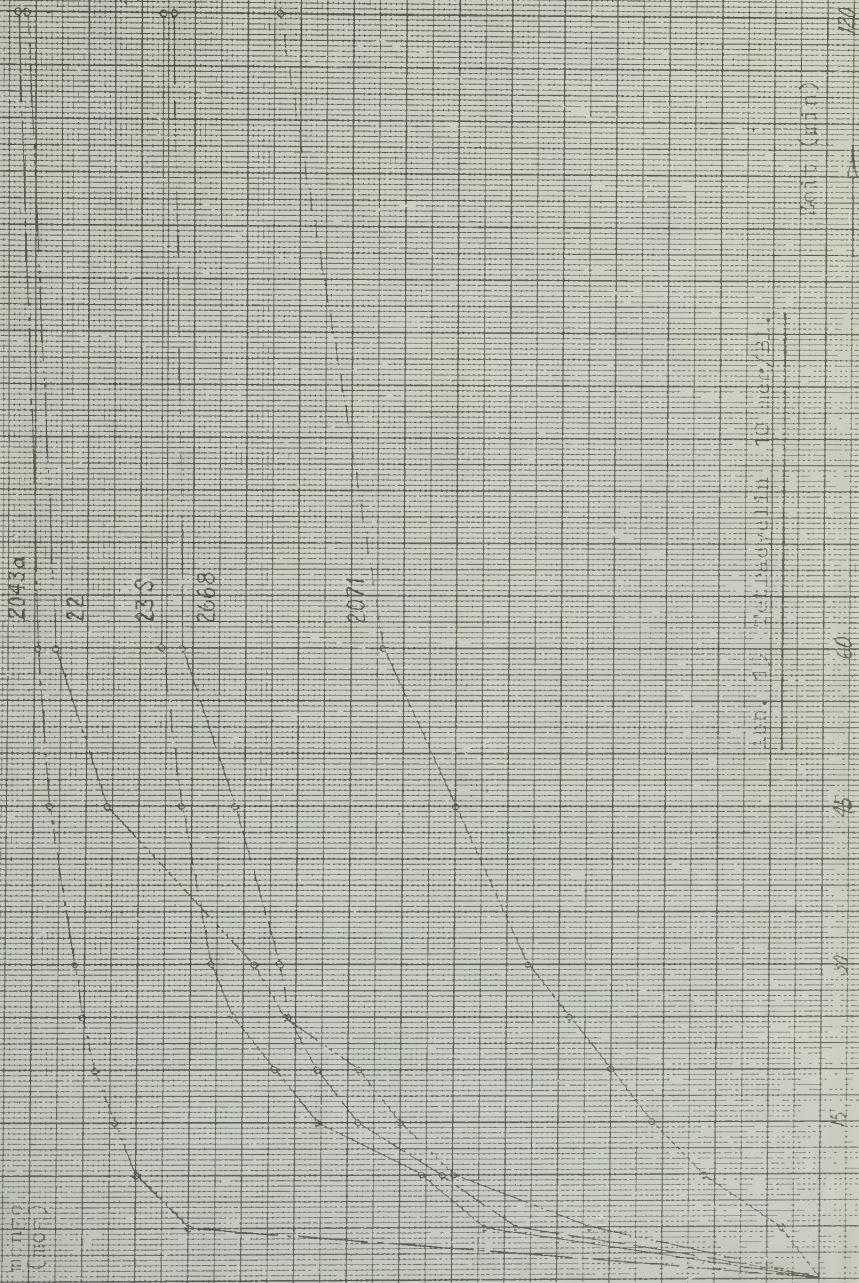
2668

2071

Apr. 17, 1904, 10:00 AM (B.T.)

Time (min)

15 30 45 60 75 90 105 120



DRITTER TEIL:

1. Diskussion

Über den Einfluß der Papiersorte auf die Hemmhofgröße beim Blättchentest liegen bisher nur wenige Arbeiten vor. Ihre Ergebnisse stimmen nicht überein. GREWE fand, daß neben anderen Faktoren die physikalischen Eigenschaften der Papiere den Blättchentest beeinflussen (12). Er stellt besonders die unterschiedliche Saugfähigkeit der Papiersorten als Grund für differierende Testergebnisse heraus. Wie auf S. 21 gezeigt wurde, konnte ich in meinen Versuchsreihen keinen Einfluß der Saugfähigkeit feststellen. Die unterschiedliche Saugkraft der Papiere wird sich vermutlich bei anderen Versuchsbedingungen auswirken: Es ist zum Beispiel denkbar, daß die verschiedenen Blättchen nicht - wie in dieser Arbeit - einzeln mit der genau gleichen Wirkstoffmenge beschickt, sondern gemeinsam in eine Lösung gebracht und (bis zur Sättigung) getränkt werden. Bei einem solchen Verfahren wird ein Papier mit größerer Saugkraft eine größere Wirkstoffmenge aufnehmen und auch einen größeren Hemmhof erzielen. Mit der Wirkstoffmenge würde jedoch eine zusätzliche Versuchsvariable eingeführt, die die Interpretation der Ergebnisse erschwert. Ich habe daher diesen Weg bewußt gemieden.

CSTRANDER und GRIFFITH untersuchen 16 verschiedene Papiersorten, ohne jedoch ihre physikalischen Daten anzugeben (22). Sie variieren den Durchmesser des Blättchens bei konstanter Antibiotikamenge, die Dicke des Blättchens, den pH-Wert der Papiere und die Menge des Lösungsmittels, in dem die (konstante) Wirkstoffmenge gelöst wird. In allen Versuchen zeigen sich nur minimale Schwankungen, so daß die beiden Autoren einen Einfluß der Papiersorte auf die Ergebnisse des Blättchentests verneinen. Allerdings testeten sie nur Penicillin G, einen sehr schnell diffundierenden Wirkstoff.

Zu anderen Ergebnissen gelangen KRAMER und KIRSHBAUM (18). Sie untersuchten drei Papiersorten mit einem Gewicht von 8,8 bis 113 mg/cm². Das schlecht diffundierende Polymyxin erzeugt bei gleicher Wirkstoffkonzentration und konstanten Nebenbedingungen nach 24-stündiger Diffusion um das leichteste Papier einen großen, um das mittelschwere einen kleineren und um das schwerste Blättchen gar keinen Hemmhof!

Diese Aussagen stimmen im Prinzip mit einem Ergebnis überein, wonach die Diffusionsgeschwindigkeit mit wachsendem Papiergewicht abnimmt. Die noch stärkeren Unterschiede in der Hemmhofgröße erklären sich aus der um eine Zehnerpotenz höher liegenden Gewichts-differenz zwischen dem leichtesten und dem schwersten Papier, die bei den amerikanischen Versuchen 104,2 mg/cm² ausmacht, bei meinen Papieren dagegen nur 13,1 mg/Bl., wobei 1 Bl. $\approx$ 1 cm². - KRAMER und KIRSHBAUM prüfen erstmalig nicht nur das leicht diffundierende Penicillin, sondern noch drei weitere Antibiotika Chlortetracyclin, Neomycin und Polymyxin.

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 15 Wirkstoffe untersucht. Wie aus den Ergebnissen hervorgeht, zeigen nun die Chemotherapeutika - in relativen Werten - bei allen Papiersorten die gleichen Abstufungen in der Diffusionsgeschwindigkeit. Es gibt also nicht nur 'schnelle' und 'langsame' Papiere, sondern auch schnelle und langsame Wirkstoffe, eine Tatsache, die auf physikalische Eigenschaften der Antibiotika zurückgeführt werden muß. Es ist zu überlegen, ob man diese Kenntnisse kombinieren soll. Würde man 'langsame' Wirkstoffe auf 'schnelle' Papiere und 'schnelle' Substanzen auf 'langsames' Trägermaterial aufbringen, so könnte man die Hemmhofdurchmesser, die die Reaktion

der Keime angeben sollen, in engeren Grenzen halten und damit die Entscheidung Empfindlichkeit oder Resistenz erleichtern.

Die Gewichtsschwankungen bei den gebräuchlichsten Papiersorten sind verhältnismäßig gering, so daß die daraus resultierenden Unterschiede bei einer Diffusionszeit von 24 h vernachlässigt werden können. Bei kurzen Diffusionszeiten zeigen dagegen die Papiersorten erhebliche Schwankungen sowohl im Hemmhof-Durchmesser als auch in der vom Blättchen abgegebenen Wirkstoffmenge. Der Einfluß der Papiersorte hat also größere Bedeutung beim sogenannten Schnelltest als bei den üblichen Prüfverfahren.

2. Zusammenfassung

Beim Hemmhoftest ist der Durchmesser des Hofes, in dem die Ausbreitung der Bakterien gehemmt wird, Maß für die Empfindlichkeit der zu untersuchenden Keime. Darüber hinaus wird der Hemmhof-Durchmesser noch von zahlreichen weiteren Faktoren beeinflusst, die teils die Latenzzeit des Inokulums, teils die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Antibiotikums im Agar bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit wird nun als weiterer möglicher Einflußfaktor die verwendete Papiersorte untersucht. Die genaue Frage lautet: Ist der Stoffübergang vom Papier in den Agar (1. Diffusionsschritt) von der Art des Papiers und/oder von Eigenschaften des Wirkstoffes abhängig?

Getestet wurden 11 Papiersorten mit einem Eigengewicht von 3,1 bis 16,2 mg/Blättchen und 15 gebräuchliche Antibiotika. Unter Konstanthaltung aller Nebenbedingungen interessierten vor allem die Diffusions-

geschwindigkeit (ausgedrückt durch den Hemmhof-Durchmesser nach einer bestimmten Diffusionszeit) und die Verteilung der Wirkstoffabgabe über die Zeit (ermittelt durch die nach bestimmten Intervallen noch im Blättchen enthaltene Restmenge). Die Versuche brachten folgende Ergebnisse:

1. Zwischen der Saugkraft der Papiere und dem Hemmhof-Durchmesser und damit der Diffusionsgeschwindigkeit wurden - im Gegensatz zu einer anderen Arbeit - keine Zusammenhänge festgestellt.
2. Es zeigte sich vielmehr eine deutliche Korrelation zwischen Diffusionsgeschwindigkeit und Papiergewicht: Die Diffusionsgeschwindigkeit ist dem Papiergewicht umgekehrt proportional (Tab. 6ff.).
Dies gilt für alle untersuchten Wirkstoffe.
3. Wachsende Wirkstoffmenge pro Blättchen bewirkt steigende Diffusionsgeschwindigkeit innerhalb gewisser Grenzen.
4. Bei den meisten Papieren erreichte der Hemmhof-Durchmesser schon nach 1 min Diffusionszeit 50 % und mehr des Wertes nach 24 h.
5. Es gibt Chemotherapeutika, die bei gleichem Nährboden, gleichem Testkeim und gleicher Papiersorte - auch relativ - eine wesentlich höhere Diffusionsgeschwindigkeit zeigen als andere Wirkstoffe.
6. Nicht nur die Hemmhofgröße, auch die in der Zeiteinheit vom Blättchen abgegebene Wirkstoffmenge ist dem Gewicht der Papiere umgekehrt proportional: Je leichter das Papier, desto mehr Wirkstoff wird in der Zeiteinheit abgegeben, oder, je schwerer das Papier, desto länger wird ein bestimmter Teil des Wirkstoffs im Blättchen zurückgehalten.

7. Die physikalischen Eigenschaften der Chemotherapeutika wirken sich nicht nur auf die Ausbreitungsgeschwindigkeit im Agar selbst, sondern auch auf den ersten Diffusionsschritt vom Papier auf den Agar aus.

Der Stoffübergang vom Papier in den Agar und damit das Ergebnis jedes Hemmhoftests wird sowohl durch das Gewicht der Papiersorte als auch durch physikalische Eigenschaften der Antibiotika beeinflusst. Dieses Ergebnis ist für den Vergleich von Untersuchungsergebnissen verschiedener Laboratorien sowie für eine Weiterentwicklung des Hemmhoftests zu berücksichtigen.

Tabelle 17: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

GANTRISIN 2000 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
2043a	27	28	28	30	29	31	35	36	36	30
2071	0	0	0	0	0	0	angedeutet		31	29
2516	angedeutet		18	21	22	30	29	33	35	29
3F	15	16	22	25	28	30	30	31	33	33
287	angedeutet			19	20	25	30	32	34	32
592 L	21	21	25	27	27	28	32	33	33	33
22	8	11	15	17	19	24	27	29	30	34

Tabelle 18: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

PENICILLIN 0,5 GE/Bl., Teststamm Staph.aureus SG 511
Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	0	0	0	16	16	23	35	40	40	32
22 W	0	0	0	0	0	16	19	27	24	32
23 S	0	0	0	0	0	15	25	33	30	43
598 L	0	10	10	23	23	28	32	37	40	25
2316	0	10	11	15	16	28	30	35	37	37
2317	0	12	16	13	15	21	21	22	35	35
2668	0	0	0	0	0	0	0	19	19	33
2043a	0	0	0	0	0	0	27	27	27	30
2071	0	0	0	0	0	0	0	0	12	30
BF	0	0	0	0	0	0	17	17	15	21
287	0	0	0	0	0	0	9	10	9	11

Tabelle 19: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

PENICILLIN 2 OE/Blättchen, Teststamm Staph.aureus SG 511

Hemmhof -Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	23	25	28	33	37	45	44	44	49	48
22 W	22	26	25	25	28	33	40	44	48	46
23 S	16	17	17	20	22	35	46	49	50	51
598 I	30	35	39	40	46	48	46	50	50	54
2316	25	23	26	32	38	47	47	52	52	49
2317	20	36	42	45	46	46	48	49	49	50
2668	15	15	16	16	22	23	40	44	47	48
2043a	42	46	46	50	50	50	50	53	54	50
2071	10	11	16	13	X	X	21	36	50	45
BF	30	31	40	40	40	51	50	52	54	49
287	12	10	18	33	32	42	42	45	49	42

X) nicht ablesbar

Tabelle 20: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

ERYTROMYCIN 8 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	25	31	28	28	31	31	32	33
22 W	26	31	31	30	30	29	33	36
23 S	26	23	27	27	28	35	32	39
598 L	32	32	34	34	36	38	40	40
2316	30	32	33	32	34	37	37	40
2317	32	33	33	35	35	36	37	40
2668	27	25	26	32	26	29	29	40
2043a	35	35	35	36	36	39	40	40
2071	25	25	24	26	28	28	31	35
BF	32	32	33	33	39	37	39	39
287	30	31	32	33	35	38	40	40

Tabelle 21: Standard-Blättchenversuch Variation 1

Verschiedene Diffusionszeiten

OLEANDOMYCIN 8 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	20	21	22	25	26	25	29	32	33	31
22 W	20	20	21	22	22	23	28	31	32	31
23 S	18	20	21	21	21	24	26	31	32	31
598 L	25	25	25	28	30	31	30	33	33	31
2316	21	20	22	26	30	30	30	33	33	32
2317	22	26	28	30	30	29	30	32	33	31
2668	22	25	25	26	26	26	22	28	28	30
2043a	28	28	28	28	28	30	31	32	32	32
2071	17	17	17	18	20	22	24	25	38	30

Tabelle 22: Standard-Blättchenversuch Variation 1,
Verschiedene Diffusionszeiten

SPIRAMYCIN 8 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	13	16	15	16	15	15	15	26
22 W	11	14	11	11	11	12	16	29
23 S	10	14	X	11	11	9	10	29
598 L	14	14	15	18	19	23	25	28
2316	10	10	10	11	16	24	23	28
2317	13	10	17	17	22	21	25	27
2668	10	----angedeutet--				10	10	25
2043a	16	16	17	18	20	24	26	29
2071	10	9	10	10	10	11	13	25

(X) nicht ablesbar

Tabelle 23: Standard-Blättchenversuch Variation 1

Verschiedene Diffusionszeiten

KANAMYCIN 20 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	--schwach angedeutet-					21	22	24	26	23
22 W	--schwach angedeutet-					10	20	25	26	22
23 S	0	0	0	0	0	9	19	23	25	22
593 L	0	9	9	13	14	24	26	26	28	22
2316	angedeutet		7	7	10	14	26	26	44	23
2317	9	10	10	15	20	22	24	28	28	24
2668	12	12	13	13	13	9	11	15	23	20
2043a	10	13	14	17	18	20	24	24	26	24
2071	0	0	0	0	0	0	11	13	16	20

Tabelle 24: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

STREPTOMYCIN 5 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	11	15	15	18	18	19	25	28
22 W	10	13	15	16	15	12	18	27
23 S	0	0	0	0	0	0	14	30
598 L	13	18	16	20	19	24	28	30
2316	0	11	12	15	18	24	27	28
2317	15	16	20	20	21	24	26	30
2668	0	0	0	0	0	0	0	27
2043a	14	17	17	19	22	26	26	31
2071	0	0	0	0	0	0	0	28

Tabelle 25: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

STREPTOLYCIN 20 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)

22	14	16	14	15	16	18	23	32
22 W	12	14	16	16	11	17	22	32
23 S	11	10	11	9	X	15	20	30
598 L	15	17	22	24	23	29	31	35
2316	13	17	13	18	23	28	28	31
2317	17	17	22	26	26	30	32	34
2668	12	12	12	12	X	X	X	32
2043a	19	22	23	23	27	31	33	35
2071	8	11	11	13	15	19	21	31

X) nicht ablesbar

Tabelle 26: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

TETRACYCLIN 10 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)								
	1	2	3	4	5	10	20	40	(24h)
22	16	17	17	20	20	28	30	32	30
22 W	12	13	13	13	13	21	29	31	34
23 S	11	10	11	11	11	15	27	30	30
598 L	18	21	23	23	26	31	32	31	34
2316	15	18	21	22	22	30	33	34	33
2317	20	21	25	24	24	30	32	32	32
2668	13	13	15	16	15	15	16	25	28
2043a	21	23	26	28	28	34	35	36	31
2071	9	11	12	14	16	16	20	25	30
BF	20	21	20	23	22	31	31	37	32
287	20	20	21	22	22	27	28	33	32

Tabelle 27: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

TETRACYCLIN 30 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)								
	1	2	3	4	5	10	20	40	(24h)
22	23	23	24	25	27	30	33	33	35
22 W	21	21	22	21	21	23	32	36	36
23 S	15	14	16	17	19	21	27	32	35
598 L	21	22	23	24	25	35	36	36	35
2316	23	23	22	24	27	33	34	36	36
2317	20	23	26	26	27	35	35	37	38
2668	14	17	17	16	16	18	25	30	37
2043a	27	31	31	32	34	36	36	36	37
2071	15	15	17	16	16	17	22	30	32
BF	23	25	25	25	26	30	35	37	35
287	20	20	20	22	24	X	X	X	35

X) nicht ablesbar

Tabelle 28: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

TETRACYCLIN 50mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)								
	1	2	3	4	5	10	20	40	(24h)
22	27	27	29	29	29	33	33	38	40
22 W	20	22	23	22	22	23	35	36	37
23 S	18	18	17	17	21	32	35	36	37
598 I	25	24	25	29	30	33	34	37	37
2316	24	23	25	25	27	36	38	39	38
2317	23	23	28	28	31	35	35	35	36
2668	18	17	21	19	19	21	34	34	35
2043a	29	32	33	34	35	39	39	40	38
2071	22	23	22	25	23	20	22	29	34
3F	27	27	27	28	30	33	36	38	36
287	25	23	23	23	28	25	36	39	36

Tabelle 29: Standard-Blättchenversuch Variation 1

Verschiedene Diffusionszeichen

POLMYXIN 20 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
22 W	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
23 S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
598 L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
2316	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
2317	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
2668	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
2043a	6	7	8	10	12	12	17	17	18	14
2071	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
BF	0	0	0	0	0	0	10	10	12	14
287	0	0	0	0	0	0	10	9	12	14

Tabelle 30: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

POLMYXIN 50 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)									
	1	2	3	4	5	10	20	40	80	24h
22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14
22 W	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
23 S	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
598 L	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
2316	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13
2317	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15
2668	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
2043a	0	6	11	11	12	14	14	16	17	13
2071	0	0	0	0	0	0	0	0	6	12
BF	0	0	0	0	0	9	11	11	15	13
287	0	0	0	0	0	6	13	13	14	14

Tabelle 31: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

NOVOBIOGIN 10 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	0	0	0	0	0	10	12	22
22 W	0	0	0	0	0	0	11	22
23 S	0	0	0	0	0	0	17	20
593 L	0	0	9	10	12	15	15	21
2316	0	0	0	0	0	10	17	21
2317	0	0	9	11	13	15	16	21
2658	0	0	0	0	0	0	0	20

Tabelle 32: Standard-Blättchenversuch Variation 1

Verschiedene Diffusionszeiten

NOVOBIOCIN 30 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	13	16	16	17	18	16	18	25
22 W	15	13	16	13	14	17	18	25
23 S	0	0	11	11	11	16	15	25
598 L	10	11	13	15	15	21	22	26
2316	10	12	12	10	13	18	20	25
2317	12	13	16	16	18	19	21	25
2668	0	0	0	0	0	10	10	25

Tabelle 33: Standard-Blättchenversuch Variation 1
Verschiedene Diffusionszeiten

CHLORALPHENICOL 12 mcg/Blättchen

Hemmhof-Durchmesser in Millimeter

Papier- sorte Nr.	Diffusionszeit (in Minuten)							
	1	2	3	4	5	10	20	(24h)
22	----angedeutet----					17	19	24
22 W	0	0	0	0	0	12	15	26
23 S	0	0	0	0	0	0	14	25
598 L	8	8	9	14	15	22	25	24
2316	0	0	8	8	11	21	23	25
2317	0	11	14	14	16	22	25	25
2668	0	0	0	0	0	0	0	X
2043a	10	13	15	15	18	22	24	25
2071	0	0	0	0	0	11	14	24

(X) nicht ablesbar

Tabelle 34: Photometrische Versuche

TETRACYCLIN 10 mcg/Blättchen

Abgegebene Wirkstoffmenge in mcg nach verschiedenen
Zeitabschnitten

Papier- sorte Nr.	Abgegebene Wirkstoffmenge in mcg nach							
	5'	10'	15'	20'	25'	30'	60'	120'
22	2,2	3,5	4,0	4,4	5,1	5,4	7,3	7,6
23 S	3,2	3,8	4,8	5,2	5,6	5,8	6,3	6,3
2043a	6,0	6,5	6,7	6,9	7,1	7,1	7,5	7,6
2071	0,3	1,1	1,6	2,0	2,4	2,8	4,2	5,2
2668	2,9	3,6	4,4	4,8	5,1	5,2	6,1	6,2

Tabelle 35: Photometrische Versuche

DELMETHYLCHLORTETRACYCLIN 10 mcg/Blättchen

Abgegebene Wirkstoffmenge in mcg nach verschiedenen
Zeitabschnitten

Papier- sorte Nr.	Abgegebene Wirkstoffmenge in mcg nach							
	5'	10'	15'	20'	25'	30'	60'	120'
22	2,7	3,3	3,6	3,3	4,5	5,1	6,0	7,2
23 S	3,3	5,1	6,3	6,9	7,2	7,5	8,4	8,7
2043a	6,3	6,6	6,9	7,2	7,5	7,7	8,3	8,4
2071	0,9	1,5	1,8	2,1	2,7	3,0	3,9	4,5
2668	2,4	4,2	5,4	6,0	6,3	6,6	6,8	7,2

Literaturverzeichnis

- 1) BAUER, A.W., ROBERTS, C.E. and KIRBY, W.M.M.: Single Disc Versus Multiple Disc and Plate Dilution Techniques for Antibiotic Sensivity Tests, Antibiotics Annual 1959/1960, 574-580.
- 2) Biochemisches Taschenbuch, hrsg. von H.M. RAUEN, Berlin - Göttingen - Heidelberg 1959, 947.
- 3) BRANCH, A., STARKEY, D.H. and POWER, E.: a) Control of Antibiotic Sensivity Discs, Antibiotics Annual 1957/1958, 107-109.
b) The Performance under Standardized Conditions of Antibiotic Sensivity Tests Using Discs that Meet Official Canadian Standards, Antibiotics Annual 1958, 1959, 7.
c) The Present Status of Control of Manufactured Antibiotic Sensivity Discs, Canadian Medical Association Journal 81 (1959), 175-177.
- 4) BRANCH, A., STARKEY, D.H., POWER, E. and GREENBERG, L.: Problems of Standardization of Manufactured Dry Penicillin Sensivity Discs, Antibiotics Annual 1956/1957, 898-905.
- 5) CHABBERT, Y.A.: Y a-t-il une base rationnelle à l'emploi des associations d'antibiotiques? Médecine et Hygiène 18 (1960), 674-676.
- 6) COOPER, K.E., LINTON, A.H., and SHEGAL, S.H.: The Effect of Inoculum Size on Inhibition Zones in Agar Medium Using Staphylococci and Streptomycin, Journal of General Microbiology, 18 (1958), 670-687.

- 7) EILAND, J.F. CHERNY, P.J., FOWLER, R.H. and SCHEELJE, B.: The Chaotic State of Penicillin Sensivity Testing as it Exists in the United States, Antimicrobial Agents Annual, New York 1960, 210-214.
- 8) ERICSSON, H.: The Paper Disc Method for Determination of Bacterial Sensivity to Antibiotics, Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation, 12 (1960), 1 - 6.
- 9) FENNER, O., HALLMANN, L. HELGENER, H., LODEN-KAMPER, H., LUDWIG, L. und MULLI, K.: Die Tetracycline, Vergleichende Untersuchung zwischen In-vitro und In-vivo Wirksamkeit unter besonderer Berücksichtigung des Aureomycins, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 79 (1954), 1861-1865.
- 10) GILLISSEN, G.: Der Agar-Diffusionstest als Routineverfahren, Zentralblatt für Bakteriologie ... I. Abt. Orig. 161 (1954), 482-490
- 11) GREEN, J.E., LENARD, R.R. and LESNEY, P.F.: Antibiotic Concentrations in Discs Used for Susceptibility Testing of Staphylococci, Antibiotics Annual 1958/1959, 818-822.
- 12) GREWE, E.G.: Problems encountered in the Manufacture of Commercial Sensivity Discs, Antimicrobial Agents Annual 1960, 465.
- 13) HÄGEL, H.: Über die Bedeutung der Resistenzbestimmung für Klinik und Praxis und die Grenzen ihrer Auswertung, Die Medizinische 1955 Nr. 18, 679-681.
- 14) KIRBY, M.M., JOSEPHARA, G.M., SUNDSTED, K. and WARREN, J.H.: Clinical Usefullness of a Single Disc Method for Antibiotic Sensivity Testing, Antibiotics Annual 1956/1957, 892-897.

- 15) KIRSCHBAUM, A., KRAMER, J. and ARRET, B.: Assay and Control of Antibiotic Discs, Antibiotics and Chemotherapy 10 (1960), 249-258.
- 16) KLEIN, P.: Über die Diffusionsgeschwindigkeit des Penicillins im Agar und ihre Interferenz mit der Latenzzeit des Inokulums bei der Resistenzbestimmung, Zentralblatt für Bakteriologie... I. Abt. Orig. 159 (1953) 301-308.
- 17) KLEIN, P. und SOUS, H.: Zur Resistenzbestimmung, Experimentielle Grundlagen und Fehlerquellen des Papierblättchentests, Deutsche Medizinische Wochenschrift, 78 (1953), 1219-1230.
- 18) KRAMER, J. and KIRSCHBAUM, A.: Effect of Paper on the Performance Assay in the Control of Antibiotic Sensivity Discs, Applied Microbiology 9 (1961), 334-336.
- 19) LINTON, A.H.: Influence of Inoculum Size on Antibiotic Assay by the Agar Diffusion Technique with Klebsiellae Pneumoniae and Streptomycin, Journal of Bacteriology, 76 (1958), 94-103.
- 20) LINZENLEIER, G.: a) Thérapeutique par les antibiotiques et tests de résistance, Die Therapie des Monats, Edition Française, Mannheim 1958 Nr. 1, 4-9.
b) Zur Bewertung einer vereinfachten Hemmhofmethode, Zentralblatt für Bakteriologie... I. Abt. Orig. 167 (1959), 327-329.
c) Present Problems in the Chemotherapy of Bacterial Diseases, Die Therapie des Monats, Overseas-edition, Mannheim 1960 Nr. 5, 9-16.
d) Hemmhofteste mit Demethylchlortetracyclin (DMCT), Chemotherapie 1 (1960), 205-214.
e) Colistin bei Säuglings-Enteritis durch E. Coli O114, Deutsche Medizinische Wochenschrift 87 (1962), 246-249.

- f) Zur Diagnostik und Resistenzentwicklung enteropathogener Colibakterien, Medizinische Klinik, 57 (1962), 351-354.
- g) In-vitro-Versuche mit verschiedenen Nitrofuranen, II. internationales Symposium für Chemotherapie Neapel 1961, VI (1963), 10-16.
- h) Resistenzbestimmung und antibakterielle Chemotherapie, Ärztliche Mitteilungen 60 (1963), 968-972.
- 21) OFEL, H.: Beiträge zur Analyse der Wachstumsförderungen bei Einwirkung von Hemmstoffen auf Mikroorganismen im Diffusionstest, Archiv für Mikrobiologie 33 (1959), 25-45.
- 22) OSIRANDER, W.E.: and GRIFFITH, L.J.: An Evaluation of Paper Concerning Their Suitability for Sensitivity Discs, Antibiotics Annual 1958/1959, 813-817.
- 23) THOMSEN, F.V.: The Relation between Inoculum and Zone Size in Sensivity Tests by the Agar Diffusion Method, Acta Path. et Microbiol. Scandinav. 61 (1964), 303-316.
- 24) TRAINER, T.D.: The Effect of the Medium on the Results of Testing Sensivity to Antibiotics, The American Journal of Clinical Pathology, 41 (1964), 101-108.
- 25) STOLL, A., BRACK, A. und RENZ, J.: Die pH-Abhängigkeit der Wirkung einiger Antibiotika im Plattentest, Schweizerische Zeitschrift für Allgemeine Pathologie und Bakteriologie 15 (1952), 591-597.
- 26) BAUER, A.W.: The Significance of Bacterial Inhibition Zone Diameters, III. International Congress of Chemotherapy Stuttgart 1963, 466-479.

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Götz Linzenmeier, danke ich herzlich für die Themenstellung und die Förderung dieser Arbeit. Desgleichen gilt mein Dank Herrn Professor Dr. Dr. Hermann Eyer, Vorstand des Max-von-Pettenkofer-Instituts der Universität München, für die Erlaubnis, die Arbeit an seinem Institut durchzuführen.

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1937 wurde ich in Saarbrücken geboren. Mein Vater ist Kaufmann. Nach Besuch der Volksschule und des Realgymnasiums in Saarbrücken legte ich im März 1957 die Reifeprüfung ab.

Ab SS 1957 studierte ich Zahnmedizin in München und ab SS 1958 Medizin und Zahnmedizin in Heidelberg, wo ich im Februar 1960 für beide Fächer die Vorprüfung bestand. Meine klinischen Semester verbrachte ich wieder in München, dort beendete ich mein Studium im Herbst 1963 mit dem Medizinischen Staatsexamen.

Anschließend war ich acht Monate als Medizinal-Assistentin am Max-von-Pettenkofer-Institut in München tätig. Meine chirurgische Pflichtassistenz absolvierte ich am Evangelischen Krankenhaus Saarbrücken. Seit Januar 1965 bin ich als Medizinal-Assistentin in der gynäkologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Bielefeld beschäftigt.

